〈論 文〉

魚投入実験池でみられたフェオ色素組成の特徴と底泥への沈降

中 島 淳* 福 島 武 彦** 相 崎 守 弘***

Pheopigments Composition in Experiment Ponds Abundant with Gold Fish (*Carrasius auratus*) and its Influence on Sediments

Jun NAKAJIMA*, Takehiko FUKUSHIMA** and Morihiro AIZAKI***

* Faculty of Science and Engineering, Dept. of Environ. Systems Eng., Ritsumeikan University, 1-1-1, Nojihigashi, Kusatsu, Shiga 525-8577 Japan

** Faculty of Engineering, Dept. of Civil & Environ. Eng., Hiroshima University, 1-4-1, Kagamiyama, Higashihiroshima, Hiroshima 739-0046 Japan

*** Faculty of Life and Environ. Sci., Dept. of Ecol. & Environ. Sci., Shimane University, 1060, Kawazu-cho, Matsue, Shimane 690-0823 Japan

Abstract

Pheopigments concentrations in sestons, settling materials and bottom muds in experiment ponds were measured by HPLC. Pyropheophytin *a* (pptn-*a*) as well as pheophytin *a* (ptn-*a*), chlorophyll *a* (chl-*a*) and pyrochlorophyll *a* (pchl-*a*) were identified by using a LC/MS method. An increase of pptn-*a* and a decrease of pheophorbide *a* (pbd-*a*) in sestons were observed in the ponds with abundant gold fish (*Carrasius auratus*). This tendency was also observed in settling materials and bottom muds in the experiment ponds. The decomposition process of chl-*a* was suggested to be chl-*a* → ptn-*a* → pbd-*a* (demetalation followed by dephytylation) in the ponds without gold fish where a large amount of zooplankton was observed. On the other hand chl-*a* → pchl-*a* → pptn-*a* (decarbomethoxylation followed by demetalation) seemed to be the main decomposition process in the ponds with abundant gold fish with a small amount of zooplankton. Zooplankton and fish may play an important role in the dephytyl process and the decarbomethoxy process, respectively. Pheopigments concentrations in surface sediments were different between Tokyo Bay, Onjuku Reservoir and Lake Imbanuma. The pyropheophorbide *a* (ppbd-*a*) concentration was high in the sediment of Tokyo Bay where settling particles would take the longest time to reach the surface sediments. High percentage of chl-*a* was observed in the surface sediment of Lake Imbanura, which was a shallow eutrophic lake, and undecomposed phytoplanktons were recognized on the surface sediment.

Key words: pheopigments, pyropheophytin *a*, degradation of chlorophyll *a*, lake sediments, HPLC

1. はじめに

chlorophyll *a* (chl-*a* と略記, 以下同) およびその分解物は, 近年 HPLC¹⁻⁴⁾や LC/MS 等を用いて詳細に測定されるようになり, 湖沼, 海洋等水環境における各種試料に対しても pheophytin *a* (ptn-*a*), pyropheophytin *a* (pptn-*a*), pheophorbide *a* (pbd-*a*), pyropheophorbide *a* (ppbd-*a*), pyrochlorophyll *a* (pchl-*a*) のフェオ色素等が分別定量されている⁵⁻⁹⁾。これらの誘導体

の相互関係を, ppbd-*a* の生成までに関与する脱マグネシウム (Mg の脱落と 2 H との置換), 脱フィチル (phytyl 鎖の脱落と H との置換), 脱カルボメトキシ (C-13²位置の CO₂CH₃: carbomethoxy の脱落と H との置換) の三つの分解過程を用いて図示すると **Fig. 1** となろう。これらの分解過程は, クロロフィルが石油中にみられるような安定なポルフィリン化合物にまで分解する過程の一部であり^{10,11)}, 続成過程のどの段階において各過程が進行するのか興味を持たれている。

* 立命館大学理工学部環境システム工学科 〒525-8577 草津市野路東 1-1-1

** 広島大学工学部地域環境工学講座 〒739-0046 東広島市鏡山 1-4-1

*** 島根大学生物資源科学部生態環境科学科 〒690-0823 松江市西川津町1060

Fig. 1 Relationships among chlorophyll a derivatives

水域で分解生成するフェオ色素の組成は、その環境と生態系の特徴の影響を受けると考えられ、底泥中のフェオ色素組成は当該水域の過去の環境を推測するのに有用といわれている¹²⁾。しかしながら、植物プランクトン中のchl-*a*から、どのような過程を経て種々のフェオ色素が分解生成してゆくかについては、未解明な点が多い。動物プランクトンや底生動物による植物プランクトンの捕食 (grazing) に伴いフェオ色素が分解生成される¹²⁻¹⁶⁾ことから、フェオ色素組成は grazing の指標となると考えられている。一方、grazing にはよらないと考えられるフェオ色素の分解生成も報告されている^{8,17,18)}。

筆者らは、魚の投入により生態系が顕著に変化した実験池において、セストンおよび沈降物等のフェオ色素組成を測定したところ、興味ある結果を得たので報告する。また、いくつかの水域の表層底泥中のフェオ色素濃度の測定結果についても示す。

2. 試料と方法

2.1 実験池と試料

国立環境研究所臨湖実験施設 (茨城県稲敷郡美浦村) にある 6 つの小型屋外実験池 (P1~P6: 詳細については福島他¹⁹⁾参照) を実験池として使用した。それぞれの容積は 36m³、水深は 1.55m で、内面にはナイロン製シートが張られている。各池には、窒素として 2 mg·l⁻¹、リンとして 0.2mg·l⁻¹ だけ濃度が増加するように、NaNO₃ および KH₂PO₄ を添加した霞ヶ浦湖水の砂ろ過水を、流量 1.8m³·d⁻¹ (滞留時間 20 日) で流入させた。P1 および P4 を除く各池には、魚 (金魚: *Carrasius auratus*) を投入した。その密度は、炭素重量換算 (実験開始時と終了時の平均) で、P2, P3, P5, P6 それぞれ、8.2gC·m⁻³、4.5gC·m⁻³、6.3gC·m⁻³、6.7gC·m⁻³ であった²⁰⁾。

1994 年 8 月 10, 17, 31 日および 9 月 9 日に、実験池のセストンおよび沈降物 (ガラス製径 5.2cm 高さ 25cm の

セジメントトラップによる捕集物: 捕集期間 2 日間) を採取した。また、長期沈降物 (実験池底部に置いたバケツ捕集物: 捕集期間 31 日間) および実験開始時 (8 月 2 日) と終了時 (9 月 12 日または 16 日) の底泥も採取した。

セストンは 100~300ml の池水を、Whatman GF/F 濾紙で吸引ろ過して捕集した。沈降物および底泥試料についても、同様に Whatman GF/F 濾紙で吸引ろ過して固形物を捕集した。濾紙上の各種試料は -20°C で凍結保存し分析に供した。

2.2 野外底泥試料

東京湾 (面積 1,200km²、容積 1.8×10¹⁰m³) 姉先沖 (水深 17m)、御宿ダム湖 (面積 0.12km²、容積 6.1×10⁵m³) 取水塔地点 (水深 11m)、印旛沼 (面積 11.6km²、容積 2.8×10⁷m³) 舟戸大橋 (水深 1.5m) の 3 水域 3 地点において、1990 年 9 月~1991 年 7 月の間に、エックマンバージ式または KS 式グラブ採泥器を用いて、表層底泥 (1 地点当たり 2~3 試料) を採取した。

2.3 分析方法

実験池各種試料は濾紙ごとバイアルビンに入れ、N, N-ジメチルホルムアミド²¹⁾ 4.0ml を加え、-20°C 暗所で一昼夜放置し色素を抽出した。野外底泥試料は試料採取同日に実験室に持ち帰り、間隙水を吸引脱水した湿泥 0.5g をバイアルビンに入れ、N, N-ジメチルホルムアミド 7.0ml を加え、-20°C 暗所で一昼夜放置し色素を抽出した。

抽出液は PTFE フィルターでろ過後、逆相 HPLC により測定した。分離カラムには トーソー ODS-80TM を、溶離液には メタノール/アセトン (7:3) を用い、流速は 0.8ml·min⁻¹ とした。検出器には 蛍光検出器 (日立 F-1050) を使用し、励起波長は 405nm、蛍光波長は 670nm とした。

実験池の P2 のセストンと沈降物、P3 の底泥のそれぞれの抽出液を用いて、LC/MS により chl-*a* 誘導体ピークのマススペクトルを測定した。分離カラムには Inertsil ODS-2 を、溶離液には メタノール/アセトン (5:5) を使用し、流速は 1 ml·min⁻¹ とした。マススペクトルの測定には JEOL SX-102 を用い、m-ニトロベンジルアルコールをマトリクスとした FAB 正イオン化法によった。

HPLC 測定においては、chl-*a*、pchl-*a*、ptn-*a*、pptn-*a* については、マススペクトルによりピークの同定ができ、各ピークの保持時間はそれぞれ 11 分、13 分、23 分、34 分付近であった。また、pbd-*a* については、410nm に最大吸収を示す最初のピーク (保持時間 4 分) を、ppbd-*a* については、その次の保持時間 6.5 分のピーク (410nm の最大吸収を確認) を用いて定量した。少数の試料では、pbd-*a* の直前に chlorophyllide とみられるピークが検出されたが、微量であり定量は行わなかった。

定量に際しては、chl-*a* および ptn-*a* の市販標準品を用い、pptn-*a*、pbd-*a* および ppbd-*a* は ptn-*a* と、pchl-*a* は chl-*a* と、それぞれモル吸光度が等しいとして計算した²²⁾。定量値はいずれも乾重量当たりのモル濃度で表示した。

3. 結果と考察

3.1 マススペクトルによる pptn-*a* 等の確認

逆相カラムを用いた湖水等のフェオ色素の測定においては、ptn-*a* とその誘導体として主たる 2 つのピークが

Fig. 4 Changes in the pheopigment concentrations in the sestons taken from the experiment ponds. FD means the fish density in the ponds (gCm^{-3}).

Table 1 Chlorophyll a concentrations in the sestons, settling materials (2 days) and the bottom muds in the experiment ponds

pond	$\mu\text{mol g}^{-1}$		
	Seston*	Settling material*	Bottom mud**
P1	1.36 ± 0.50	0.71 ± 0.24	0.37
P2	2.40 ± 1.57	1.33 ± 0.84	0.76
P3	3.81 ± 2.01	1.86 ± 0.37	0.61
P4	2.25 ± 0.57	-	0.95
P5	2.35 ± 1.61	-	0.63
P6	2.65 ± 1.78	-	1.01

* Mean $\pm$ S.D.

** at the end of the experiment

た (Fig. 5)。

長期間沈降物および実験期間後の実験池底泥についても、P1, P4 で pbd-a が、P2, P6 および P5 で pptn-a の構成割合が高かった (Table 2)。このように、実験池での沈降過程において chl-a は減少し、一方、セストン中でみられたフェオ色素組成の特徴は、沈降物を通して実験池底泥に伝達されていた。

3.3 pptn-a および pbd-a の分解生成過程

魚の投入は実験池のプランクトン群集構造に大きな変

化を引き起こした。魚のいる池では植物プランクトンが多く動物プランクトンは少なかった。これは、魚による動物プランクトンの捕食の進行と、動物プランクトンによる植物プランクトンの捕食の減少によって解釈されている^{19,20)}。

植物プランクトンの種構成については、魚のいる池では *Microcystis*, *Oscillatoria* といった藍藻類が、魚のいない池では緑藻類が優占した。動物プランクトンは、*Brachionus*, *Cyclops*, *Bosmina* が全般的に優占し、魚のいない池では *Bosmina* の増加が特徴的であった^{19,20,23)}。このように魚の投入により、生物種の構成とその存在量に大きな変化が引き起こされ、それに伴ってセストン中のフェオ色素組成が変化したものと考えられる。

測定した全試料の pbd-a と pptn-a 濃度をプロットすると Fig. 6 のとおりで、魚のいない池 (P1, P4: 黒丸) には pptn-a が高い試料がみられず、他方、魚のいる池 (P2, P3, P5, P6: 白丸) では pbd-a が高い試料がみられない。各実験池の魚密度と、実験最終サンプリング時 (9月9日) のセストン中の pptn-a/pbd-a 比をプロットすると Fig. 7 のとおりで、相関係数 0.917 の相関がみられ、魚密度の増加に対応した pptn-a/pbd-a 比の増加すなわち pptn-a の増加と pbd-a の減少が明らかであっ

Fig. 5 Changes in the pheopigment concentrations in the settling materials (2days) taken from the experiment ponds

Table 2 Pheopigments concentrations in the settling materials (31 days) and the bottom muds in the experiment ponds

		μmol g ⁻¹			
pond	sample	ptn-a	pptn-a	pbd-a	ppbd-a
P1	SM(L)	0.144	0.133	0.206	0.157
	BM(S)	0.174	0.038	0.142	0.167
	BM(E)	0.138	0.097	0.238	0.143
P2	SM(L)	0.451	0.964	0.221	0.248
	BM(S)	0.149	0.124	0.101	0.218
	BM(E)	0.235	0.606	0.069	0.138
P3	SM(L)	0.144	0.133	0.206	0.157
	BM(S)	0.246	0.184	0.049	0.178
	BM(E)	0.208	0.275	0.072	0.167
P4	SM(L)	0.059	0.018	0.191	0.217
	BM(E)	0.081	0.037	1.166	0.183
P5	SM(L)	0.309	0.525	0.259	0.108
	BM(E)	0.256	0.460	0.056	0.111
P6	SM(L)	0.335	0.594	0.105	0.090
	BM(E)	0.310	0.614	0.102	0.002

SM(L): settling material during 31 days
BM(S): bottom mud at the start of the experiment
BM(E): bottom mud at the end of the experiment

た。
魚のいる池では pbd-a の高濃度試料がみられず、魚のいない池で pbd-a が増加したことから、pbd-a の分解生成には魚のいない池に多い動物プランクトンが関与していることが示唆される。実際、pbd-a は動物プランクトン等による grazing の指標となることが指摘されており^{12,14)}、また甲殻類による grazing により ptn-a および pbd-a が生成されるといわれている¹³⁾。こうしたことから、魚のいない池における pbd-a の増加は、これらの池に多数みられた甲殻類の *Cyclops*, *Bosmina* 等を主とした grazing により生じたと考えられる。また、実験池では

Fig. 6 Relationship between pheophorbide a and pyropheophytin a concentrations. black circle: P1, P4; white circle: P2, P3, P5, P6

ptn-a の存在と比較して chlorophyllide a がほとんどみられなかったことから、Fig. 1 で示した chl-a 分解過程については、chl-a → ptn-a → pbd-a の順(脱マグネシウム, 脱フィチルの順)に分解が進行したと考えられる。pptn-a は魚密度の増加に伴い増加したが、実験池の特定の植物プランクトンまたは動物プランクトンの消長との関連は明瞭ではなかった。測定した全試料における pptn-a と pchl-a の関係をプロットすると Fig. 8 のとおりで、pptn-a が高濃度の試料においては pchl-a も高かった。また、セストン中の pptn-a の増加に先だって pchl-a が増加する傾向がみられた。これらのことから、pptn-a の生成は chl-a → pchl-a → pptn-a の順(脱カルボメトキシ, 脱マグネシウムの順)に分解が進行したと考えられる。

実験池で用いている魚糞中のフェオ色素濃度を測定したところ、pchl-a(0.414μmol・g⁻¹)および pptn-a(0.256μmol・g⁻¹)が比較的高濃度であり、とくに pchl-a はセス

トン中の最大濃度にほぼ等しかった。このことから、魚投入池での pchl-*a* の増加は魚糞中の pchl-*a* に起因することが示唆され、魚の摂餌によって脱カルボキシ過程が進行した可能性が考えられる。しかしながら、魚投入池においてはその他の生態系も大きく変化しており、魚以外の脱カルボメトキシ酵素系の誘導が起きた可能性も否定できない。また、本実験で使用した金魚は雑食性であるが、食性の異なる魚種でも同様の傾向が得られるかについては、今後の課題である。

Keely¹¹⁾は、Fig. 1 で示した ppbd-*a* までの分解は、図中の三つの分解過程の組合せによって、続成作用の比較的初期に水中で起きるとしている。その経路としては、(1) chl-*a* → pchl-*a* → pptn-*a* → ppbd-*a*, (2) chl-*a* → ptn-*a* → pbd-*a* → ppbd-*a*, (3) chl-*a* → ptn-*a* → pptn-*a* → ppbd-*a* の 3 通りの可能性をあげている。他方、chloro-

phyllase による分解から始まる、chl-*a* → chlorophyllide-*a* → pbd-*a* → ppbd-*a* の分解経路も、高等植物等で報告されている²⁴⁾。今回の実験結果は、Keely¹¹⁾の経路のうちの(1)および(2)の二つの経路を支持しているといえる。

魚のいない池で pbd-*a* が、魚のいる池（動物プランクトンが少ない池）で pptn-*a* がそれぞれ蓄積したことは、前者においては pbd-*a* → ppbd-*a* の、後者では pptn-*a* → ppbd-*a* の分解過程の進行速度が遅いことを示している。このことは、pbd-*a* → ppbd-*a* の脱カルボキシ過程には魚の存在、pptn-*a* → ppbd-*a* の脱フィチル過程には動物プランクトンの存在が必要なることを示唆しており、各過程がそれぞれの存在によって進行したとした前述の考察（魚：chl-*a* → pchl-*a*, 動物プランクトン：ptn-*a* → pbd-*a*）を裏付けている。

3.4 底泥中のフェオ色素濃度

実際の湖沼、海洋等では、実験池で起こった分解過程を含む、より多様な経路で chl-*a* からフェオ色素への分解が進行し、分解生成したフェオ色素が底泥に沈降するものと考えられる。東京湾、御宿ダム湖、印旛沼といった環境や生態系が異なる水域について、表層底泥中のフェオ色素濃度を測定したところ Table 3 のとおりであり、水域による差異が明瞭にみられた。

東京湾底泥では、他と比べて pbd-*a* および ppbd-*a* 濃度が高い点の特徴であった。これは、3 水域の中で最も水深が深いために沈降に要する時間が長く、フェオ色素の中でもより分解が進んだ ppbd-*a* の割合が最も高くなったと考えられる。また、湾内に多い橈脚類の grazing によって pbd-*a* の生成が進んだことが推測される。

他方、印旛沼底泥中には chl-*a* が高い割合で残存しているが、これは印旛沼が水深が浅くまた富栄養化が進んでいるために、未分解の植物プランクトンが底泥に沈降し、そのために chl-*a* が残存したと考えられる。Table 3 に比較のために示した Priest Pot は、富栄養湖で最大水深は 4 m と浅いとされ、印旛沼と同様に表層底泥中に高濃度の chl-*a* の残存が認められている^{5,6)}。

御宿ダム湖の水深は、東京湾と印旛沼の間であるが、底泥中の chl-*a* および ppbd-*a* も両者の中間の濃度であった。また、ptn-*a*, pptn-*a*, pbd-*a* の順に濃度が高かった。

3 水域のフェオ色素濃度を Black Sea 底泥中のフェオ色素濃度の報告値⁷⁾と比較すると、Table 3 のようにオーダー的には大差がないといえる。他方、Priest Pot 底泥中の ptn-*a* および pptn-*a* の濃度は極端に高く、実験池の沈降物や底泥中の濃度（Fig. 5 および Table 2）のオーダーであった。

Table 3 Concentrations of chlorophyll *a* and pheopigments in surface sediments

sample	chl- <i>a</i>	ptn- <i>a</i>	pptn- <i>a</i>	pbd- <i>a</i>	ppbd- <i>a</i>	pchl- <i>a</i>
Tokyo Bay	0.3	3.7	3.0	10.4	26.1	nd
Onjuku Reservoir	3.8	16.8	13.2	10.7	8.2	nd
Lake Imbanuma	10.4	5.4	3.5	3.6	2.4	nd
Priest Pot*	39	130	150	42	52	-
Black Sea**	nd	9.50	9.70	1.46	3.80	-

* 0-5cm depth; Keely and Brereton (1986), Keely et al. (1988)

** 0-10cm depth in the western basin; King (1995)

nd means not detected

Fig. 7 Relationship between fish density and pyropheophytin *a*/pheophorbide *a* ratio of the sestons on Sep. 9

Fig. 8 Relationship between pyrochlorophyll *a* and pyropheophytin *a* concentrations

King⁷⁾は Table 3 に示したフェオ色素の他にもこれらの steryl ester 類 (PSEs) や高分子の形態で存在するものがあり、後者が HPLC クロマトグラムのベースラインを上げているとしている。今回測定した野外底泥試料のクロマトグラムにも、一部その傾向がみられた。

4. ま と め

魚を投入した実験池において、セストン中の pptn-*a* の増加と pbd-*a* の減少が観測された。この特徴は沈降物および底泥にも認められ、池水中のフェオ色素組成の特徴が底泥に伝達されていた。動物プランクトンの多い魚のいない池では、chl-*a* → ptn-*a* → pbd-*a* の経路で、フェオ色素の分解生成が進行したと考えられた。魚投入池では動物プランクトンが少なく、pbd-*a* の減少は動物プランクトンの減少に起因すると考えられた。魚投入池における pptn-*a* の増加は、chl-*a* → pchl-*a* → pptn-*a* の経路の分解生成によると考えられ、魚の摂餌による脱カルボキシ過程の進行の可能性が示唆された。

東京湾、御宿ダム湖、印旛沼の表層底泥中のフェオ色素組成には、水域による差異が認められた。沈降に要する時間が長いと考えられる東京湾底泥中では ppbd-*a* の割合が最も高く、水深が浅く未分解の植物プランクトンが沈降している印旛沼底泥中では chl-*a* が高い割合で残存していた。

湖沼や海洋中におけるクロロフィルは、光分解の他にその生態系により、本報で示した他にも様々な経路でフェオ色素へ分解し、その組成の特徴が底泥に伝達するものと考えられる。

LC/MS の測定に協力いただいた日本電子(株)応用研究センターの松浦健二氏に謝意を表します。

(原稿受付 1997年9月17日)

(原稿受理 1998年1月22日)

参 考 文 献

- 1) Watanabe, T., Hongu, A., Honda, K., Nakazato, M., Konno, M. and Saito, S. (1984) Preparation of Chlorophylls and pheophytins by isocratic liquid chromatography, *Analytical Chemistry*, **56**, 251-256.
- 2) Sartory, D. P. (1985) The determination of algal chlorophyllous pigments by high performance liquid chromatography and spectrophotometry, *Water Research*, **19**, 605-610.
- 3) Suzuki, N., Saito, K. and Adachi, K. (1987) Reversed-phase high-performance thin-layer chromatography and column liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives, *Journal of Chromatography*, **408**, 181-190.
- 4) Yacobi, Y. Z., Mantoura, R. F. C. and Llewellyn, C. A. (1991) The distribution of chlorophylls, carotenoids and their breakdown products in Lake Kinneret (Israel) sediments, *Freshwater Biology*, **26**, 1-10.
- 5) Keely, B. J. and Brereton, R. G. (1986) Early chlorin diagenesis in a Recent aquatic sediment, *Organic Geochemistry*, **10**, 975-980.
- 6) Keely, B. J., Brereton, R. G. and Maxwell, J. R. (1988) Occurrence and significance of pyrochlorins in a lake sediment, *Organic Geochemistry*, **13**, 801-805.
- 7) King, L. L. (1995) A mass balance of chlorophyll degradation product accumulation in Black Sea sediments, *Deep-Sea Research I*, **42**, 919-942.
- 8) Spooner, N., Keely, B. J. and Maxwell, J. R. (1994) Biologically mediated defunctionalization of chlorophyll in the aquatic environment-I. Senescence/decay of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*, *Organic Geochemistry*, **21**, 509-516.
- 9) Eckardt, C. B., Keely, B. J. and Maxwell, J. R. (1991) Identification of chlorophyll transformation products in a lake sediment by combined liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, **557**, 271-288.
- 10) 小山忠四郎 (1980) 生物地球化学, p.p.142-148, 東海大学出版会, 東京.
- 11) Keely, B. J., Prowse, W. G. and Maxwell, J. R. (1990) The Treibs hypothesis: an evaluation based on structural studies, *Energy & Fuels*, **4**, 628-634.
- 12) Carpenter, S. R., Elser, M. M. and Elser, J. J. (1986) Chlorophyll production, degradation, and sedimentation: Implications for paleolimnology, *Limnology and Oceanography*, **31**, 112-124.
- 13) Vernet, M. and Lorenzen, C. J. (1987) The relative abundance of pheophorbide *a* and pheophytin *a* in temperate marine waters, *Limnology and Oceanography*, **32**, 352-358.
- 14) Hurley, J. P. and Armstrong, D. E. (1990) Fluxes and transformations of aquatic pigments in Lake Mendota, Wisconsin, *Limnology and Oceanography*, **35**, 384-398.
- 15) Takamura N., Ji, J. L., Yang, H. Q., Zhu, X. B. and Miura, T. (1993) A novel approach to evaluate feeding by mixed cyprinid species in a Chinese integrated fish culture pond using measurements of chlorophyll derivatives and photosynthesis in gut contents, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **50**, 946-952.
- 16) Head, E. J. H. and Harris, L. R. (1992) Chlorophyll and carotenoid transformation and destruction by *Calanus* spp. grazing on diatoms, *Marine Ecology Progress Series*, **86**, 229-238.
- 17) Head, E. J. H. and Horne, E. P. W. (1993) Pigment transformation and vertical flux in an area of convergence in the North Atlantic, *Deep-Sea Research II*, **40**, 329-346.
- 18) Head, E. J. H., Hargrave, B. T. and Subba Rao, D. V. (1994) Accumulation of a pheophorbide *a*-like pigment in sediment traps during late stage of a spring bloom: a product of dying algae?, *Limnology and Oceanography*, **39**, 176-181.
- 19) 福島武彦, 松重一夫, 相崎守弘, 井済哲, R. H. Goma, 孔東壽 (1995) 魚の水質, 物質循環に及ぼす影響に関する実験的研究, 水環境学会誌, **18**, 883-893.
- 20) 松永千会, 秦三和子, 細見正明, 福島武彦, 松重一夫, 大久保卓也 (1996) 実験池の物質動態の1993年と1994年の比較, 霞ヶ浦臨湖実験施設研究発表会講演報告集, **10**, 51-57.
- 21) Suzuki, R. and Ishimaru, T. (1990) An improved method for the determination of phytoplankton chlorophyll using N, N-dimethylformamide, *Journal of Oceanographical Society of Japan*, **46**, 190-194.
- 22) Lorenzen, C. J. and Downs, J. N. (1986) The specific absorption coefficients of chlorophyllide *a* and pheophorbide *a* in 90% acetone, and comments on the fluorometric determination of chlorophyll and pheopigments, *Limnology and Oceanography*, **31**, 449-452.
- 23) 松永千会, 福島武彦: 未発表データ.
- 24) Shimokawa, K., Hashizume, A. and Shioi, Y. (1990) Pyropheophorbide *a*, a catabolite of ethylene-induced chlorophyll *a* degradation, *Phytochemistry*, **29**, 2105-2106.